

Stress-induced tRNA cleavage and tiRNA generation in rat neuronal PC12 cells

著者	ALAA MOHAMMED ELSAWY ALI ELKORDY
号	88
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第3814号
URL	http://hdl.handle.net/10097/00126232

氏 名	アラ モハメド エルサウィ アリ エルコルディ <u>Alaa Mohammed Elsaywy Ali Elkordy</u>
学 位 の 種 類	博士 (医学)
学位授与年月日	平成 30 年 9 月 25 日
学位授与の条件	学位規則第 10 条第 1 項
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科 (博士課程) 医科学専攻
学位論文題目	Stress-induced tRNA cleavage and tiRNA generation in rat neuronal PC12 cells. (ラット神経細胞株 PC12 におけるストレス誘導性 tRNA 切断および tiRNA 形成に関する研究)
論文審査委員	主査 教授 富永 悌二 教授 中里 信和 教授 後藤 昌史

論 文 内 容 要 旨

Background: Transfer RNA (tRNA) plays a role in stress response programs involved in various pathological conditions including neurological diseases. In cell stress conditions, intracellular tRNA is cleaved by a specific ribonuclease, angiogenin, generating tRNA-derived fragments or tRNA-derived stress-induced RNA (tiRNA). tiRNA exerts cell protective effects against cell damage.

Methods: To examine angiogenin-mediated tiRNA generation in neuronal cells, we used the rat neuronal cell line, PC12, in combination with analysis of SYBR staining and immuno-northern blotting using anti-l-methyladenosine antibody, which specifically and sensitively detects tiRNA. Oxidative stress induced by arsenite, hydrogen peroxide and oxygen glucose deprivation.

Results: Oxidative stress induced by arsenite and hydrogen peroxide caused tRNA cleavage and tiRNA generation in PC12 cells. Further, we also

demonstrated that oxygen-glucose deprivation, which is an *in vitro* model of ischemic-reperfusion injury, induced tRNA cleavage and tiRNA generation. In these stress conditions, the amount of generated tiRNA was associated with the degree of morphological cell damage. Time course analysis indicated that generation of tiRNA was prior to severe cell damage and cell death. Angiogenin overexpression did not influence the amount of tiRNA in normal culture conditions, but in contrast, significantly increased tiRNA generation in stress conditions.

Conclusion: we show that ANG-mediated tRNA cleavage and tiRNA generation is induced by various oxidative stressors, including *in vitro* ischemia-reperfusion, in neuronal PC12 cells. Detection of tiRNA induced by cell stress could be a potential cell damage marker of neuronal-type cells.

審査結果の要旨

博士論文題目 Stress-induced tRNA cleavage and tiRNA generation in rat neuronal PC12 cells

（ラット神経細胞株 PC12 におけるストレス誘導性 tRNA 切断および tiRNA 形成に関する研究）

所属専攻・分野名 医科学専攻・神経外科学 分野

学籍番号 B4MD5133 氏名 Alaa Mohammed Elsayy Ali Elkordy

Transfer RNA (tRNA) は messenger RNA の情報に基づいてタンパク質合成を行うのみならず、神経を含む様々な病態におけるストレスへの反応にとっても重要な働きを有することが近年明らかになってきた。ひとたび細胞にストレスが生じると、細胞内の tRNA は angiogenin により切断され、tRNA-derived stress-induced RNA (tiRNA) と呼ばれる RNA の小片となり、この tiRNA が細胞障害に対して細胞保護的に働く可能性が示唆されはじめている。しかしながら、神経系においては tiRNA が発現するのかどうかについて、未だ詳細は検討されていない。

本研究では、細胞へのストレス後の angiogenin による tiRNA の発現につき、神経系の細胞株である PC12 を用いて検証した。SYBR 染色、抗 1-メチルアデノシン抗体を用いたノーザンブロット法により tiRNA の発現を検証した。細胞へのストレスとしては、亜ヒ酸塩、過酸化水素、虚血再灌流の *in-vitro* モデルとして知られている oxygen-glucose deprivation (OGD) の 3 種を用いた。

PC12 にストレスを負荷すると、細胞の形態学的な変化と共に tiRNA が発現した。tiRNA の発現は、高度の細胞障害や細胞死に先立ち生じた。tiRNA 発現を制御すると考えられる angiogenin を過剰発現させると、平常状態では tiRNA の発現量には変化を認めなかったが、ストレス下では tiRNA 発現が有意に上昇した。

本研究により、虚血再灌流を含む種々のストレス後に angiogenin により制御される tiRNA が生じることが示された。細胞障害に先立ち tiRNA 発現が上昇するため、tiRNA は、潜在的な神経細胞障害のマーカーとして、臨床応用も期待できると考えられた。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。